感染囊幼病的工蜂咽下腺细胞的超微结构的变化

杜芝兰　张宗炳
（北京大学生物系）

关键词　囊幼病病毒　工蜂　咽下腺

前　言

中华蜜蜂囊幼病是我国养蜂业的一种重要病毒病，发病率很高，有的地区造成大量的幼虫死亡，给我国养蜂生产带来一定的危害，为了对防治病害提供科学的依据，我们首先对该病病原进行了分离、提纯及电子显微镜的研究等工作。发现该病毒对幼虫和成蜂，尤其对工蜂体内各个器官都有程度不同的影响。在幼虫发病期症状特别明显，病幼虫身体松软多水，其表皮容易破裂，当悬挂幼虫时其幼虫末端积聚有透明的液滴，在巢房内幼虫头部尖并变成黑色，头部稍微向上抬起呈船形。死后的幼虫干涸变为褐色的外壳留于巢房内，当感染的幼虫全部封盖后，巢房盖的中央有一小孔，这些异常的变化都是囊幼病的典型症状。幼虫症状虽很明显，但工蜂感染病毒后在外部形态上却没有明显的变化，只有通过电镜观察才能发现病毒颗粒在宿主细胞内感染的部位。我们曾经对蜜蜂幼虫和工蜂的中肠、神经、气管及肌肉等组织进行了普遍的检查，发现细胞内有病毒颗粒的晶格排列以及病毒对宿主细胞诱发的病变，严重时甚至可以造成宿主细胞完全裂解，我们又进一步在工蜂咽下腺细胞内进行检查。不仅有大量的病毒颗粒复制，而且同时也造成细胞器的形态变化，这势必影响王浆分泌。本文通过电镜观察初步总结囊幼病病毒对咽下腺细胞超微结构的影响。

材料和方法

将5－6日龄的工蜂（取自农科院养蜂所）置冰箱内麻醉后，在解剖镜下解剖头部，由头腔的两侧取出咽下腺，腺体的外部形态是由许多个椭圆形囊状结构所组成，每个囊内具有许多个单细胞，每个细胞都有一个不分枝的小管连到总分泌管上以输送王浆

本文1983年8月1日收到。

到咽喉部，腺体经2.5％戊二醛和10％四氧化锇双固定，丙酮脱水，用国产环氧树脂“618”包埋，用LKB 8800型超薄切片机切片，厚度为500Å，用醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色。

结　果

（一）健康蜂的咽下腺细胞的胞内管分为三层，即外层、内层和中层。内层为致密带（支持带）在管腔内呈螺旋排列类似昆虫气管内的螺旋丝具有支持作用。支持带完整、厚薄均匀，支持带内壁衬有一层薄膜。中层为颗粒层，呈密集而均匀的排列。最外一层为薄膜层，在电镜下清晰可见，薄度均匀一致。胞浆物质丰富而且均匀密布，因此薄膜层与中层之间的距离比较宽阔，平均为 2.3 μm（图版Ⅰ，2）。

病蜂的胞内管的内层支持带有断裂的现象，支持带明显清楚，但带与带之间的距离加宽，可能由于带脱落而造成，支持带内壁的膜不明显或消失。颗粒层周围出现致密物堆集。薄膜层明显可见但厚薄不一致，胞浆物质出现凝集现象，因而胞浆不均匀，颗粒层与薄膜之间距离缩小，平均为 1.4 μm（图版Ⅰ，1），这可能是由于受囊幼病病毒（图版Ⅰ，5）的影响，分泌王浆物质减少造成了形态上的变化。

（二）健康蜂咽下腺细胞的胞外管管壁光滑，结构明显，外层膜扩展，外层膜与中层之间的距离平均为0.33 μm（图版Ⅰ，3）。

病蜂的胞外管的外层膜大部分紧贴中层，外层膜与中层之间的距离很小，平均为0.1μm（图版Ⅰ，4）。

（三）健康蜂的咽下腺细胞内有丰富的粗面内质网，尤其在分泌块周围更为集中，成为整齐而平行的成层排列，所附着的核糖体排列较紧密（图版Ⅰ，6）。

病蜂的细胞粗面内质网的囊膨大或缩小，囊内中空，或含少量中等致密度的物质，有的内含物为絮状，有的粗面内质网自身也浓缩一部分蛋白质类物质成为电子致密度较强的颗粒，积存在囊内。由病毒的复制引起内质网膜间距变宽与空泡化，在细胞质中形成大量的大小不等的空泡。附着在内质网上的核糖体有的排列较紧密，有的则较稀疏，有的脱落，有的附着在内质网膜旁，游离的核糖体堆集成团（图版Ⅰ，7、9、12）粗面内质网形态变化是对细胞功能正常化的一种形态指标。

（四）健康蜂的咽下腺细胞的线粒体呈圆柱形（图11）。嵴的形状为板层状，线粒体分布在内质网和分泌块附近，数量比较多。

病蜂细胞的线粒体数量比较少，形态发生很多变化，有的线粒体肿胀，有的浓缩，有的成为畸形呈马蹄形和弯曲形等（图版Ⅰ，12）。线粒体内的嵴增多，有的嵴断裂和消失，成为空泡。线粒体膜间区充满致密的基质（图版Ⅰ，7，12）。

（五）健康蜂的细胞核是不规则的变形虫状，具有分枝的突起，二层核膜基本上是平行的，核内具有多个核仁，核仁的颗粒成份和核丝的成份结构明显（图版Ⅰ，14）。

病蜂的细胞核具有明显的变化，核膜变厚，双层核膜之间的间距变宽，核膜外突或内陷形成许多泡状结构（图版Ⅰ，9）。核内有许多颗粒聚集成堆或均匀分散，染色质具有凝聚趋边现象（图版Ⅰ，8），这种现象为不可逆的病理损伤，引起细胞坏死所出

现的早期变化。

病毒在细胞内的繁殖过程中，诱发宿主细胞内常常产生一些新的结构，这些新的结构在健康蜂咽下腺细胞内比较少见或者不存在。

（六）健康蜂咽下腺细胞内分布有大量的分泌块，有的很大，泡浆均匀丰满，并有内质网延伸到分泌块上，另外还有许多分泌颗粒着色很深。基质均匀呈黑色，多数为圆形（图版Ⅰ，2，3）。

病蜂细胞内分泌块出现凝集现象，胞浆致密度不均匀并出现有大小不等的颗粒物质，分泌颗粒数量很多，但每个分泌颗粒的基质内有沉积现象，呈现出一个一个的黑点结构（图版Ⅰ，1，4）。

（七）病蜂腺体细胞的细胞质内常常出现髓样结构（图版Ⅱ，13），有很多病毒感染的细胞内经常能观察到相当多的髓样结构，其螺旋排列的层次有的几层，有的到几十层之多。形状不一，有圆形和椭圆形，大小也很悬殊。

（八）病蜂胞质内呈现许多堆集的泡状结构，有的小胞内充满许多颗粒，在堆集的小泡外面有内质网延伸，空泡大量的增加是胞质体结构损坏的表现（图版Ⅱ，10）。

（九）病蜂的胞质内发现许多成束的微丝，有的分布在线粒体附近，有的在细胞核附近，微丝束平行排列或垂直排列。有几条微丝到几十条微丝。有的是单根的微丝分散在细胞质内。

讨　　论

工蜂咽下腺细胞感染SBV后，在电镜观察下发现一些明显的病理变化，线粒体的病变比较突出，不仅形态上有变化而且数量上也有不同，正常的咽下腺细胞内线粒体总是聚集在分泌块附近，往往与内质网紧密相邻，而病蜂细胞内的线粒体数量减少，形态异常，影响了细胞内的稳定性，细胞代谢受到干扰，引起线粒体肿胀及内膜破坏，大量絮状物产生，成为不可逆的病变。其次，由于SBV的感染诱发内质网的变化，粗面内质网和核蛋白体是合成蛋白质的主要基地，产生病变时普遍有脱粒现象和内质网扩大，重者可完全失掉其原来的形态变成大空泡，并且在内质网小池内堆积着许多圆形颗粒，内质网脱粒现象出现时常常伴有脂质的蓄积和大量髓样结构出现，这可能是细胞代谢严重地遭到破坏和发生了转变。

腺细胞内的胞内管及胞外管的变化，核的变形、染色质的凝聚趋边以及微丝束的增多，都是SBV复制的结果，势必造成王浆分泌物的减少以及使合成与输送王浆受到阻抑，这是很清楚的。但腺细胞内病毒的寄生和繁殖对病毒的传递机制所起的作用还有待进一步研究。

参 考 文 献

洪涛等 1980 生物医学超微结构与电子显微镜技术。科学出版社

Beams, H. W. *et al.* 1959 An electron microscope study on the pharyngeal glands of the honey bee. *J. ultrastruct. Res.*, 2：155—170

Wang, Der—I *et al.* 1970 ultrastructural changes in the hypopharyngeal glands of Worker honey

bees infected by Nosema Apis. *J. of Invertebr. pathol.*, 17: 308—320

Mussen. E. C. *et al*. 1976 Replication of sacbrood virus in larval and adult honey bee, *Apis mellifera*, *J. of invertebr. pathol*, 30: 2—34

ULTRASTRUCTURAL CHANGE IN THE HYPOPHARYNGEAL GLANDS OF WORKER HONEY BEE (*APIS CERANA*) INFECTED WITH SACBROOD VIRUS

Du Zhilan Zhang Zongbing

(*Department of Biology, Beijing University*)

Secretion of royal jelly is an important function of the hypopharyngeal glands of worker honey bee. Royal jelly is used to feed honey bee larvae and queens.

Hypopharyngeal glands of infected worker bees showed the area between the intracellular ductules and the outer layer membrane was greatly reduced in 5—6 days old infected worker bee as contrasted with that of the healthy bees. The reduction of the outer layer area of intracellular ductules in hypopharyngeal glands of sacbrood-infected bee suggested that royal jelly secreted was much less than in healthy bees of the same age.

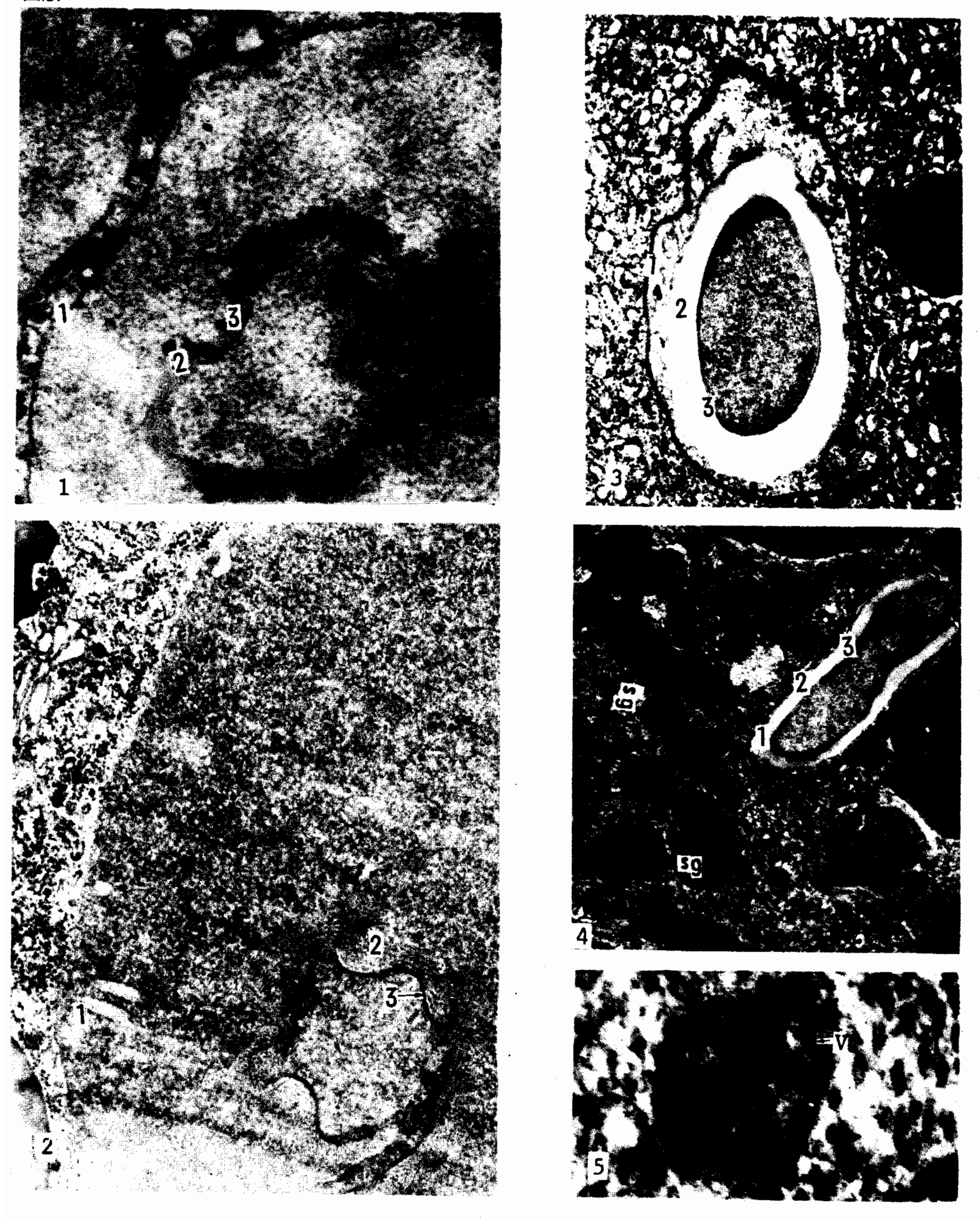
The gland of diseased bee showed the disappearance of the rough endoplasmic recticulum and fewer ribosomes were seen in the gland of diseased bee than in the glands of healthy bees.

There were variations in special functional state of the cell. In infected bee, remnants of mitochondria were observed in hypopharyngeal glands cells, while the mitochondria of diseased bee were transformed into large vacuoles and enlarged lysosomes transformed into myelinlike membranes.

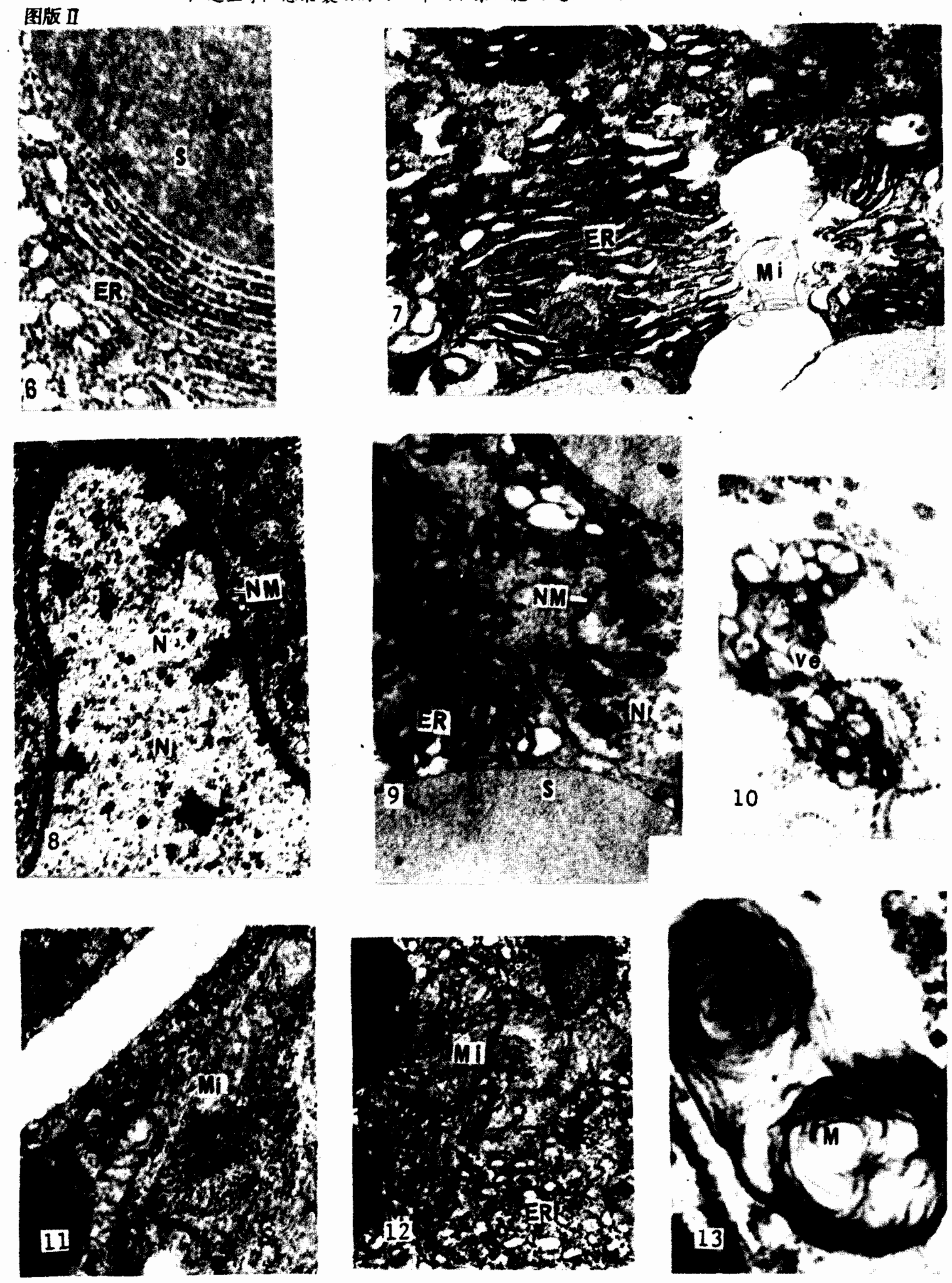
Key words **Sacbrood virus** **Worker honey bee** **Hypopharyngeal gland**

Du zhilan *et al* .: Ultrastructral Change in the Hypopharyngeal Glands of Worker Honey Bee (*Apls cerana*) Infe Ted with Sacbrood Virus

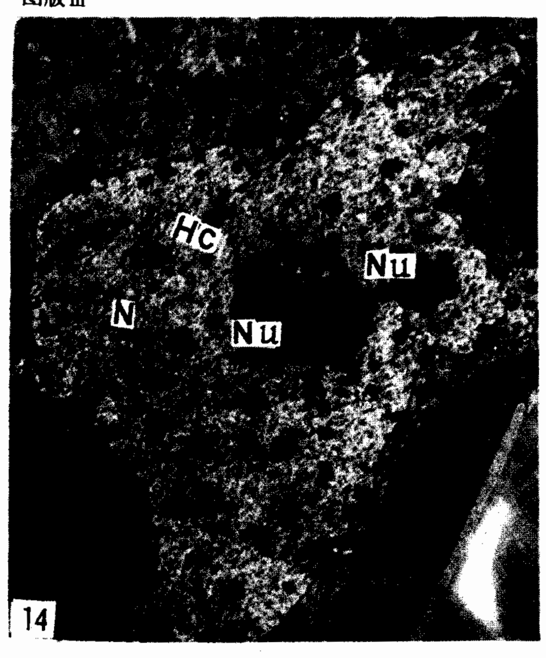
图版 I



图版 II



图版Ⅲ





图版说明

图 1　病蜂咽下腺细胞的胞内管　1－内带，2－颗粒层；3－薄膜层　19200×　图 2　健康蜂咽下腺细胞的胞内管　1－内带；2－颗粒层；　3－薄膜层　25000×　图 3　健康蜂咽下腺细胞的胞外管　1－外层；2－中层；3－内层 20000×　图 4　病蜂咽下腺细胞的胞外管　1－外层；2－中层；3－内层　s 8－分泌颗粒10500×　图 5　囊幼病病毒（Sacbroodvirs）　V－病毒 108000×　图 6　健康蜂咽下腺细胞的粗面内质网 S－分泌块；ER－粗面内质网　46280×　图 7　病蜂咽下腺细胞的粗面内质网 ER－粗面内质网；Mi－线粒体　22100×　图 8　病蜂咽下腺细胞核 N－核；NM－核膜；HC－异染色质　23400×　图 9　病蜂咽下腺细胞核 N－核；NM－核膜；S－分泌块　15000×　图10　病蜂咽下腺细胞内泡状结构　Ve－小泡　4200×　图11　健康蜂咽下腺细胞线粒体　Mi－线粒体　20620×　图12　病蜂咽下腺细胞线粒体　Mi－线粒体　23240×　图13　病蜂咽下腺细胞髓样结构 M－髓样结构　96000×　图14　健康蜂咽下腺细胞核　N－核；Nu－核仁；HC－异染色质　5820×

图15　病蜂咽下腺细胞的微丝　Mf－微丝；　S分泌块　29800 ×

Fig.1 Intracellular ductule in the hypopharyngeal gland of infected worker bees 1-inner layer; 2-middle layer; 3-out layer membrane. 19200 x Fig.2 Intracellar ductule in the hypopharyngeal gland of healthy worker bees 1-inner layer; 2-middle layer; 3-out layer membrane. 25000 x Fig.3 Extracellular ductule in the hypopharyngeal gland of healthy worker bees 1-out layer membrane; 2-middle layer; 3-inner layer. 20000 x Fig.4 Extracellular ductule in the hypopharyngeal gland of infected worker bees 1-out layer membrane; 2-middle layer; 3-inner layer. 10500 x Fig.5 Sacbrood virus v-virus. 108000 x Fig.6 Rough endoplasmic reticulum in the hypopharyngeal gland of healthy worker bees s-secretion masses; RER-rough endoplasmic reticulum. 46280 x Fig.7 Rough endoplasmic reticulum in the hypopharyngeal gland of infected worker bees ER-rough endoplasmic reticulum; Mi-mitochondria. 22100 x Fig.8 Nucleus in the hypopharyngeal gland of healthy worker bees N-nucleus; NM-nucleus membrane. 23400 x Fig.9 Nucleus in the hypopharyngeal gland of infected worker bees N—nucleus; NM—nucleus membrane; s—secretion masses. 15000 x Fig.10 Vesicle structure in the hypopharyngeal gland of infected worker bees Ve-vesicle. 4200 x Fig. 11. Mitochondria in the hypopharyngeal gland of healthy worker bees Mi-mitochondria. 20620 x Fig.12 Mitochondria in the hypopharyngeal gland of infected worker bees Mi-mitochondria. 23240 x Fig.13 Myelin-like membranes in the hypopharyngeal gland of infected worker bees M-myelin-like membranes. 96000 x